Août 2006

Enquête sur les méthodes de diagnostic des *Escherichia coli* entéropathogènes et des *Escherichia coli* entérohémorragiques dans les laboratoires d'analyses biologiques et médicales, en France, en 2003

Hôpital Robert Debré

INSTITUT PASTEUR

INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE

sommaire

Résumé p. 2

1 Introduction p. 3

2 Méthodes p. 3

3 Résultats p. 4

3.1. Participation des laboratoires sollicités p. 4

3.2. Recherche des *E. coli* entéropathogènes ou *E. coli* entérohémorragiques (dont *E. coli* O157) p. 5

3.3. Nombre de recherche des EPEC ou des EHEC (dont *E. coli* O157) en 2003 p. 6

3.3.1. Recherche des EPEC ou des EHEC en 2003 p. 6
3.3.2. Recherche d'*E. coli* O157 p. 7

3.4. Indications de recherche des EPEC ou des EHEC (dont *E. coli* O157) p. 7

3.5. Informations disponibles concernant la patient et accompagnant les prélèvements p. 8

3.6. Techniques utilisées pour la recherche des EPEC ou des EHEC (dont *E. coli* O157) p. 9

3.6.1. Milieux de culture p. 9
3.6.2. Analyses complémentaires des isolements suspects pour confirmer des EPEC ou EHEC p. 9
3.6.3. Caractérisation des gènes de virulence des souches d'EHEC p. 10
3.6.4. Transmission des souches d'EPEC ou EHEC pour caractérisation p. 10
3.6.5. Transmission de sérums pour sérodiagnostic d'infections à EHEC p. 10

4 Discussion p. 10

5 Recommandations préconisées par le Centre national de référence des *E. coli* et *Shigella* et le laboratoire associé au CNR p. 12

5.1. Conditions de recherche des EHEC ou STEC p. 12

5.2. Milieux de transport pour l'envoi des prélèvements (selles ou souches) p. 12

5.3. Isolement et identification des EHEC ou STEC p. 12

5.3.1. Milieux d'isolement p. 12
5.3.2. Séro-agglutinations pour les souches d'EHEC p. 12
5.3.3. Séro-agglutinations pour les souches d'*E. coli* O157 p. 12

5.4. Caractérisation de la virulence des souches de STEC : détection des gènes *stx* codant les shigatoxines p. 13

5.5. Caractérisation moléculaire des souches de STEC p. 13

6 Références p. 14

7 Annexe 1 : Questionnaire d'enquête p. 16

Annexe 2 : Fiches de diagnostic d'infections à *E. coli* producteurs de shigatoxines p. 22

PARTENAIRES DE L'ETUDE

Institut de veille sanitaire, Département des maladies infectieuses
- Emmanuelle Espié
- Véronique Vaillant

Centre national de référence (CNR) des *Escherichia coli* et *Shigella*, Institut Pasteur de Paris
- Francine Grimont

Laboratoire associé au CNR des *Escherichia coli* et *Shigella*, Hôpital Robert Debré de Paris
- Patricia Mariani-Kurkdjian

RESUME

En France, la surveillance des infections à *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC) est basée sur la surveillance du syndrome hémolytique et urémique (SHU) post-diarrhéique chez l'enfant âgé de moins de 15 ans, mise en place en 1996. Après huit années de fonctionnement, cette surveillance a été évaluée pour juger de sa pertinence et apporter, si besoin, les modifications nécessaires. En complément de cette évaluation, et compte tenu du potentiel épidémique des infections à STEC, il a été suggéré d'étudier la faisabilité d'étendre la surveillance des SHU à celle d'autres pathologies provoquées par les STEC, en particulier les diarrhées sanglantes.

Afin de contribuer à la discussion sur la faisabilité et les modalités d'une telle surveillance, une enquête, qui fait suite à une enquête déjà réalisée en 1997, a été réalisée auprès de 927 laboratoires d'analyses biologiques et médicales, correspondant à la totalité des 418 laboratoires hospitaliers et à un échantillon de 509 laboratoires privés sélectionnés aléatoirement. Cette enquête, qui consistait en l'envoi à chacun des laboratoires sélectionnés d'un questionnaire standardisé, avait pour objectifs de réaliser un inventaire des différentes méthodes de recherches des *E. coli* entéropathogènes (EPEC) et *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) utilisées en routine, d'estimer le nombre de recherches réalisées en 2003 et le nombre de résultats positifs, et de connaître les raisons pour lesquelles ces examens sont peu ou pas réalisés.

Parmi les 357 (39 %) laboratoires ayant participé à l'enquête (192 laboratoires hospitaliers et 165 laboratoires privés), 215 (60 %) ont réalisé la recherche d'EPEC ou d'EHEC. Une majorité d'entre eux (66 %) réalisent ces examens à la demande du clinicien ou systématiquement pour toute coproculture, et surtout en présence de diarrhée chez l'enfant âgé de moins de 2 ans. La recherche de *E. coli* O157 est plus fréquemment réalisée lors de diarrhée sanglante chez l'enfant ou lors de SHU (55-60 %). Cependant, seulement 36 % des laboratoires ont répondu avoir recherché *E. coli* O157 en 2003. Seize laboratoires (tous hospitaliers) caractérisent la virulence des souches de EHEC, par recherche par PCR (« Polymerase Chain Reaction ») des gènes codant pour les shigatoxines, et seulement 39 % des laboratoires transmettent des sérums au Centre national de référence (CNR) des *E. coli* et *Shigella* pour un sérodiagnostic d'infections à EHEC.
Les principales raisons citées par les laboratoires ne réalisant pas la recherche des EPEC ou EHEC étaient la non disponibilité et méconnaissance des techniques, le peu de connaissances sur l'importance des infections à EHEC chez l'homme, et l'absence de demande spécifique des cliniciens.

En conclusion, cette enquête révèle que la recherche des EPEC ou EHEC reste peu pratiquée en France, du fait de la rareté des infections à STEC, en dehors du SHU, et de la non disponibilité et de la complexité des techniques à mettre en œuvre pour réaliser l'identification complète d'un STEC.
Au vu de ces résultats, et dans l'état actuel des pratiques de recherche des EPEC et EHEC, une surveillance nationale des infections à STEC, reposant sur un réseau représentatif de laboratoires, n'est donc pas encore réalisable. Cependant, cette enquête a permis d'identifier des actions précises (élaboration d'un protocole de recherche des STEC, appui technique aux laboratoires) afin d'améliorer le diagnostic des infections à STEC. Ces actions seront mises en œuvre en collaboration avec le CNR des *E. coli* et *Shigella* et le laboratoire associé au CNR.

1. INTRODUCTION

Depuis une dizaine d'années, les infections causées par *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC), et plus particulièrement par le sérotype O157:H7, apparaissent comme un problème de santé publique en Amérique du Nord et en Europe [1]. Les STEC sont responsables de manifestations cliniques variées : diarrhée banale, colite hémorragique, syndrome hémolytique et urémique (SHU), purpura thrombotique thrombocytopénique [2].
Les principaux modes de transmission des infections à STEC à l'homme sont la consommation d'aliments contaminés (viande de bœuf peu cuite, produits laitiers non pasteurisés), la transmission de personne à personne, l'ingestion d'eau contaminée et le contact avec des animaux (notamment les bovins) [1].

En France, une étude, réalisée en 1995-96, a montré que 86 % des cas de syndromes hémolytiques et urémiques (SHU) typiques chez les enfants de moins de 15 ans étaient associés à une infection à STEC, avec une forte prévalence du sérogroupe O157 [3]. Compte tenu des résultats de cette étude et du potentiel épidémique de ces infections, il a été décidé de poursuivre la surveillance des SHU afin de suivre les tendances spatio-temporelles de la maladie et de détecter des phénomènes épidémiques. Cette surveillance mise en place en 1996 chez les enfants âgés de moins de 15 ans est coordonnée par l'Institut de Veille Sanitaire, en collaboration avec la Société française de néphrologie pédiatrique, l'Unité de biodiversité des bactéries pathogènes émergentes de l'Institut Pasteur de Paris et le laboratoire de microbiologie de l'hôpital Robert Debré de Paris [4].

En 1997, une enquête réalisée auprès des laboratoires hospitaliers de bactériologie pour faire un inventaire des différentes méthodes de recherche des STEC utilisées avait montré que la recherche des STEC, en particulier sur gélose Mac Conkey-Sorbitol, était peu pratiquée en France, du fait d'une non prescription spécifique par les médecins et de la difficulté du diagnostic microbiologique [5]. En effet, il n'existe pas actuellement, en France, de référentiel pour la recherche des STEC. Seules des recommandations, élaborées par la section de microbiologie clinique de la Société française de microbiologie, décrivent la recherche systématique d'*Escherichia coli* entéropathogènes (EPEC) chez l'enfant de moins de 2 ans, sur milieu type EMB ou Drigalski et la recherche d'*E. coli* O157, lors de SHU, sur gélose Mac Conkey au sorbitol [6].

Afin d'étudier à nouveau la faisabilité d'étendre la surveillance des infections à STEC au delà de celle des SHU, en particulier en incluant la diarrhée sanglante et/ou la diarrhée simple, l'Institut de veille sanitaire a réalisé une nouvelle enquête afin de connaître l'évolution des activités de diagnostic des *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines réalisées dans les laboratoires d'analyses biologiques et médicales en France.

2. METHODES

Au vu des difficultés de recherche et d'identification des STEC et du manque de connaissances sur ces pathogènes identifiés lors de l'enquête réalisée en 1997 [5], le choix de cette nouvelle enquête a porté sur le recensement des activités de diagnostic des *Escherichia coli* entéropathogènes (EPEC) et des *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) dans les laboratoires d'analyses biologiques et médicales en France.

En effet, les *Escherichia coli* responsables de symptômes intestinaux sont classés en fonction des signes cliniques engendrés (diarrhée, diarrhée sanglante, etc.) et des facteurs de pathogénicité exprimés (*eae*, *stx*, etc.), les souches de STEC isolées chez des malades étant lors appelées EHEC [7]. *E. coli* d'un même sérogroupe (tel que O26, O55, O157) peut appartenir à différentes classes d'*E. coli* entérovirulents [7] ; il est donc nécessaire de réaliser l'identification complète et la caractérisation des facteurs de pathogénicité pour distinguer un EPEC ou EHEC, d'un STEC.

Une enquête sur les méthodes de diagnostic des EPEC et EHEC permet donc de mieux appréhender les différentes activités de diagnostic permettant d'aboutir à l'identification complète des STEC.

Cette enquête a été réalisée auprès de tous les laboratoires d'analyses biologiques et médicales hospitaliers (418) et d'un échantillon de laboratoires d'analyses biologiques et médicales privés (509) : soit au total près qu'un quart (23 %) des 4 000 laboratoires existants en France.
Un courrier leur a été adressé le 12 mars 2004, accompagné d'un questionnaire sur les pratiques diagnostiques des EPEC, EHEC et *E. coli* O157 et d'une enveloppe pré-affranchie.

Le 5 mai 2004, un deuxième courrier a été envoyé aux laboratoires n'ayant pas encore répondu.

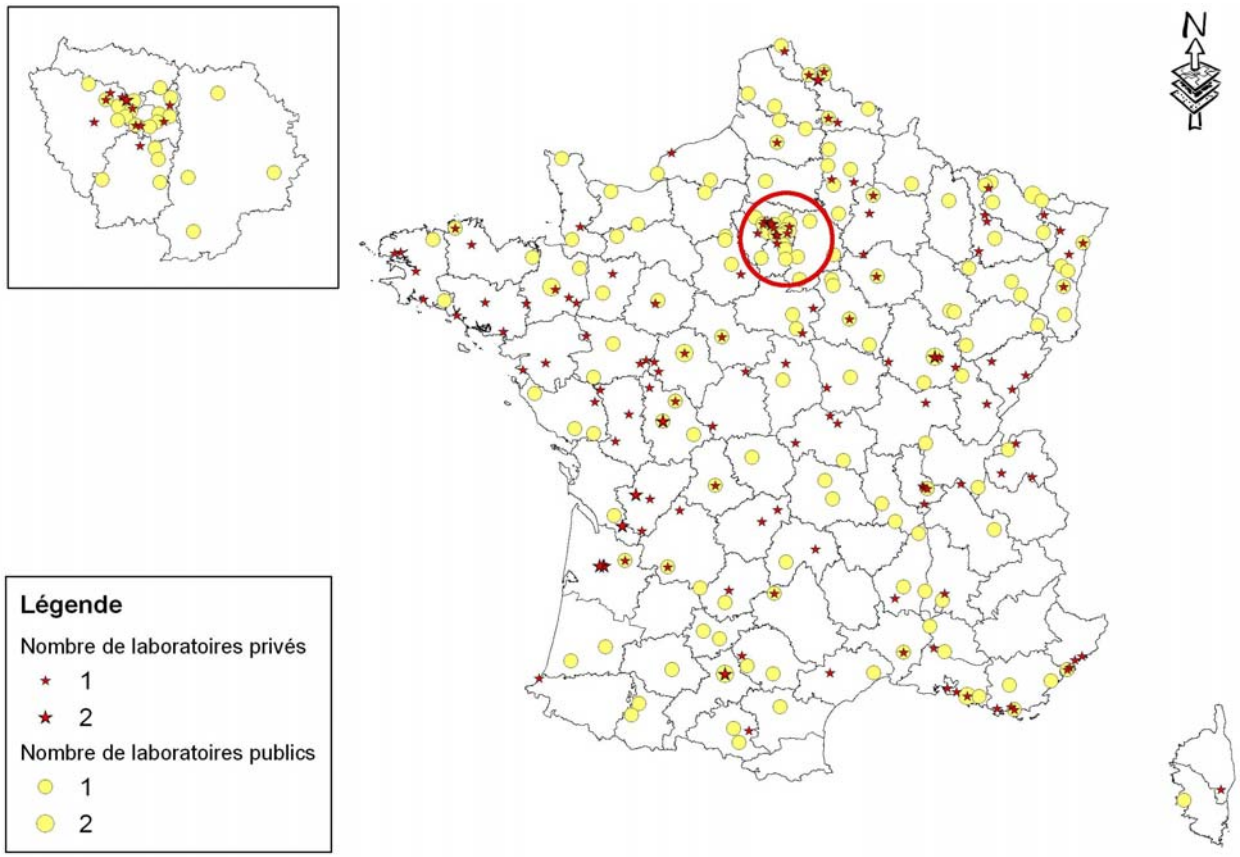
Le questionnaire (annexe 1) envoyé a permis de réaliser un inventaire des différentes méthodes de recherche des EPEC-EHEC utilisées en routine, d'estimer le nombre de recherche de EPEC, EHEC et *E. coli* O157 réalisées en 2003 et le nombre de résultats positifs, et de connaître les raisons pour lesquelles ces examens sont peu ou pas réalisés.
La saisie et l'analyse des données a été réalisée à l'aide du programme Epi Info© version 6.02 (CDC Atlanta USA).

3. RESULTATS

3.1 Participation des laboratoires sollicités

Trois cent cinquante sept (39 %) des laboratoires contactés ont participé à l'enquête (annexe 2).
Ces laboratoires sont répartis de manière relativement homogène sur le territoire métropolitain (figure 1).

Figure 1 : Répartition géographique des laboratoires ayant répondu à l'enquête



La participation a été plus importante pour les laboratoires des Centres hospitaliers (CH) et des Centres hospitaliers universitaires (CHU) (tableau 1).

Tableau 1 : Participation des laboratoires

Type de laboratoires	Nombre de laboratoires	
	Total	Participants (%)
Publics (CHU, CH)	418	192 (46)
Privés	509	165 (32)
Total	**927**	**357 (39)**

Les patients pour lesquels les laboratoires réalisent des analyses sont principalement issus de consultations de médecine de ville (praticien généraliste ou spécialiste) (209/354, 59 %) ou de médecine hospitalière (199/353, 56 %).

3.2 Recherche des *E. coli* entéropathogènes ou des *E. coli* entérohémorragiques (dont *E. coli* O157)

Parmi les 351 laboratoires qui ont répondu et qui réalisent des coprocultures, 215 (61 %) pratiquent la recherche des EPEC ou des EHEC, mais à des niveaux très variables (tableau 2).

Tableau 2 : Activité de recherche des EPEC et des EHEC

Activité de recherche	Nombre de laboratoires (%)
Recherche des EHEC ou EPEC dans le laboratoire	215 (61)
Aucune recherche, mais transmission vers un autre laboratoire	34 (10)
Aucune recherche, ni transmission vers un autre laboratoire	91 (26)
Aucune réponse	11 (3)
Total	**351**

La non disponibilité et méconnaissance des techniques, le peu de connaissances sur l'importance des infections à EHEC, et l'absence de demande spécifique des cliniciens étaient les plus fréquemment citées par les 91 laboratoires qui ne réalisent pas la recherche des EPEC ou des EHEC (tableau 3).
Une différence est notée entre les raisons mentionnées par les laboratoires hospitaliers et les laboratoires privés : 50% des laboratoires privés citent la méconnaissance des techniques, contre 14% pour les laboratoires hospitaliers.

Tableau 3 : Raisons d'absence de recherches des EPEC et des EHEC dans les 91 laboratoires ne réalisant pas en routine la recherche des EPEC ou des EHEC

Raisons (plusieurs réponses possibles)	Nombre de laboratoires (%)
Technique non disponible au laboratoire	42 (46)
Méconnaissances des techniques	31 (34)
Méconnaissance de l'importance des infections à EHEC	26 (29)
Absence de prescription par le médecin	26 (29)
Coût trop élevé, matériel périssable	26 (29)
Demandes d'analyses EHEC insuffisantes, recherches négatives	10 (11)
Augmentation de la charge de travail	5 (5)
Total	**91**

La proportion de laboratoires pratiquant la recherche des EPEC ou des EHEC est plus élevée dans les laboratoires qui travaillent dans les centres hospitaliers et avec des services recevant à la fois des enfants et des adultes (tableau 4).

Tableau 4 : Recherche des EHEC selon le type d'établissement auquel est rattaché le laboratoire et le type de services qui envoient des prélèvements.

	Nombre total de laboratoires participants	Nombre de laboratoires recherchant des EPEC ou des EHEC (%)
Type d'établissement		
Centres hospitaliers	192	120 (63)
Établissements privés	159	95 (60)
Type de service		
Pédiatrie	10	5 (50)
Pédiatrie et adultes	154	114 (74)
Adultes	172	89 (52)
Inconnu	15	7 (47)
Total	**351**	**215**

3.3 Nombre de recherche des EPEC ou des EHEC (dont *E. coli* O157) en 2003

3.3.1 Recherche des EPEC ou des EHEC

Parmi les 215 laboratoires réalisant la recherche des EPEC ou des EHEC en 2003, 124 (58 %) ont indiqué le nombre d'analyses réalisées dans leur laboratoire, 16 (7 %) n'ont réalisé aucune analyse, et 75 (35 %) ne connaissaient pas le nombre d'analyses réalisées. Parmi les 140 laboratoires ayant donné une estimation du nombre de recherches, la majorité (54 %) avaient trouvé entre 1 et 9 échantillons positifs en 2003 (tableaux 5a et 5b).

Tableau 5a : Estimation du nombre de recherche des EPEC ou des EHEC réalisées en 2003

Nombre d'analyses	Nombre de laboratoires (%)
0	16 (7)
1 - 9	8 (4)
10 - 19	21 (10)
20 - 49	23 (11)
50 - 99	15 (7)
100 - 499	43 (20)
500 - 999	12 (6)
> 1000	2 (1)
Aucune réponse	75 (33)
Total	**215 (100)**

Tableau 5b : Estimation du nombre d'échantillons positifs à EPEC ou EHEC en 2003

Nombre d'échantillons positifs	Nombre de laboratoires (%)
0	37 (19)
1-9	75 (38)
10 - 19	16 (8)
20 - 49	15 (8)
> 50	0
Aucune réponse	58 (29)
Total	**198 (100)**

3.3.2 Recherche d'*E. coli* O157

Parmi les 213 laboratoires réalisant la recherche d'*E. coli* O157 en 2003, 76 (36 %) ont indiqué le nombre d'analyses réalisées dans leur laboratoire, 97 (46 %) n'ont réalisé aucune analyse, et 40 (18 %) ne connaissaient pas le nombre d'analyses réalisées. Parmi les 97 laboratoires ayant donné une estimation du nombre de recherches réalisées, la majorité (79 %) n'avait trouvé aucun échantillon positif en 2003 (tableaux 6a et 6b).

Tableau 6a : Estimation du nombre d'analyses d'*E. coli* O157 réalisées en 2003

Nombre d'analyses	Nombre de laboratoires (%)
0	97 (46)
1 - 9	26 (12)
10 - 19	10 (5)
20 - 49	12 (6)
50 - 99	7 (3)
100 - 499	16 (8)
500 - 999	3 (1)
> 1000	2 (1)
Aucune réponse	40 (18)
Total	**213 (100)**

Tableau 6b : Estimation du nombre d'échantillons positifs à *E. coli* O157 en 2003

Nombre d'échantillons positifs	Nombre de laboratoires (%)
0	77 (66)
1 - 9	17 (15)
10 - 19	2 (2)
> 20	0
Aucune réponse	20 (19)
Total	**117 (100)**

3.4. Indications de recherche des EPEC ou des EHEC (dont *E. coli* O157)

Les indications les plus fréquemment citées pour rechercher des EPEC ou des EHEC étaient : « toute coproculture chez l'enfant » (surtout pour la recherche des EPEC) et « à la demande du médecin prescripteur » (plus particulièrement pour la recherche des EHEC et d'*E. coli* O157) (tableau 7).

Tableau 7 : Indications pour la recherche des EPEC ou EHEC (dont *E. coli* O157)

Indication (plusieurs réponses possibles)	**Nombre de laboratoires recherchant des EPEC ou EHEC (%*)**	**Nombre de laboratoires recherchant *E. coli* O157 (%*)**
Toute coproculture (enfants et adultes)	9 (5)	4 (3)
Toute coproculture d'enfant	132 (66)	19 (15)
Uniquement EPEC	30	
Toute diarrhée d'enfant	73 (37)	34 (27)
Nouveaux-nés	1	0
Enfants ≤ 2 ans	50	9
Enfants ≤ 3 ans	9	1
Enfants ≤ 5 ans	6	1
Toute diarrhée d'adulte	22 (11)	28 (22)
Toute diarrhée sanglante d'enfant	73 (37)	69 (55)
Toute diarrhée sanglante d'adulte	50 (25)	66 (52)
A la demande du médecin	131 (66)	99 (79)
Syndrome hémolytique et urémique	75 (38)	74 (59)
Notion de cas groupés	28 (14)	18 (14)
Autres critères [$]	3 (2)	3 (2)
Aucune réponse	15	87
Total	**215**	**213**

* Pourcentages calculés à partir du total des laboratoires qui ont répondu
[$] Culture monomorphe de *E. coli* ou sorbitol négatif, diarrhée du voyageur, biopsie colique

3.5. Informations disponibles concernant le patient et accompagnant les prélèvements

Les informations les plus complètes (> 90 %) sont les informations démographiques (âge et sexe du patient) et la date de prélèvement (tableau 8).

Tableau 8 : Informations concernant le patient transmises par le médecin prescripteur, et saisies par les laboratoires d'analyses

Information	**Nombre de laboratoires (%*)**
Informations démographiques	
Age	205 (97)
Sexe	201 (97)
Lieu de résidence	152 (76)
Histoire clinique	
Date du prélèvement	194 (94)
Notion de diarrhée	163 (80)
Notion de colite hémorragique	105 (54)
Notion de syndrome hémolytique et urémique	98 (51)
Notion de purpura thrombotique thrombocytopénique	71 (38)
Date de début des symptômes	72 (37)
Hospitalisation	135 (69)
Autres informations	
Notion de cas groupés	99 (50)
Voyage à l'étranger	133 (66)

* le pourcentage est calculé par rapport au total des laboratoires répondants pour chaque item

3.6. Techniques utilisées pour la recherche des EPEC ou des EHEC (dont *E. coli* O157)

3.6.1 Milieux de culture

Quatre-vingt deux pour cent des laboratoires réalisent la recherche des EPEC ou EHEC sur des milieux d'isolement pour Entérobactéries, alors que 56 % des laboratoires utilisent des milieux semi-sélectifs (contenant du sorbitol ou un substrat de la βglucuronidase) pour la recherche d'*E. coli* O157 (tableau 9).

Tableau 9 : Milieux utilisés pour la recherche des EPEC ou des EHEC et pour la recherche d'*E. coli* O157 par les 215 laboratoires répondants

Type de milieux (plusieurs réponses possibles par laboratoire)	**Nombre de laboratoires recherchant les EPEC ou EHEC (%)**	**Nombre de laboratoires recherchant *E. coli* O157 (%)**
Milieux d'isolement toutes bactéries [a]	10 (5)	4 (2)
Milieux d'isolement pour Entérobactéries [b]	153 (71)	54 (25)
Milieux semi-sélectifs [c]	37 (17)	66 (30)
Aucune réponse	28 (13)	98 (46)

[a] Gélose au sang columbia, CLED
[b] BCP, Drigalski, Hektoen, Bromocrésol pourpre, EMB, Kligler
[c] CPS ID2, CPS ID3, Mac Conkey Sorbitol, SMID, Chromagar O157, Uriselect4

Parmi les laboratoires qui ont recherché *E. coli* O157 en 2003, 55 (47 %) utilisent le milieu Mac Conkey-Sorbitol ou équivalent (Chromagar O157 ou gélose au sorbitol).

3.6.2. Analyses complémentaires des isolements suspects pour confirmer des EPEC ou des EHEC

La majorité des laboratoires qui recherchent les EPEC ou les EHEC réalisent une galerie d'identification biochimique de *E. coli* (type API20E ou 32E, VITEK1 ou 2, Microscan, BBL Crystal) et une séro-agglutination de l'antigène O (tableau 10).

Parmi les 178 laboratoires réalisant la séro-agglutination de l'antigène O, 39 (22 %) caractérisent l'antigène O de la souche d'EPEC ou EHEC isolée parmi les sérogroupes suivants (O26, O55, O86, O111, O114, O119, O124, O125, O126, O127, O128, O142). Ces laboratoires utilisent plus préférentiellement une association de sérums nonavalent, trivalents et monovalents (14/39, 36 %), une association de sérums trivalents et monovalents (14/39, 36 %), ou 12 sérums monovalents (11/39, 28 %).

Parmi les 101 laboratoires réalisant la séro-agglutination de l'antigène O pour caractériser les souches d'*E. coli* O157, 73 précisent qu'ils utilisent des méthodes d'agglutination à l'aide de particules de latex sensibilisés (type OXOID ou WELLCOLEX).

Tableau 10 : Examens complémentaires pour confirmation des isolements suspects d'EPEC ou EHEC réalisés dans les 215 laboratoires répondants

Description d'examens	**Nombre de laboratoires recherchant les EPEC - EHEC (%)**	**Nombre de laboratoires recherchant *E. coli* O157 (%)**
Galerie d'identification biochimique *E. coli*	126 (66)	100 (85)
Séro-agglutination de l'antigène O	178 (93)	101 (86)
Séro-agglutination de l'antigène H7	-	14 (12)
Aucune réponse	24	95
Total	**215**	**213**

3.6.3. Caractérisation des gènes de virulence des souches d'EHEC

Seize laboratoires (tous hospitaliers) caractérisent la virulence des souches d'EHEC. Les gènes les plus fréquemment recherchés sont *stx1*, *stx2, eae* (6 laboratoires, 38%) et *stx1*, *stx2* (5 laboratoires, 31 %).
La méthode le plus fréquemment citée (12/15, 80 %) est la « Polymerase Chain Reaction », PCR (multiplex ou en temps réel). D'autres méthodes (détection immunologique des shigatoxines ou culture cellulaire sur cellules MRC5) ont été citées par trois laboratoires.
La recherche est effectuée sur colonies uniquement pour 8 laboratoires et sur selles et colonies pour les 8 autres laboratoires.

3.6.4. Transmission des souches d'EPEC ou d'EHEC pour caractérisation

Cinquante-six (26 %) laboratoires transmettent systématiquement leurs souches pour confirmation à un autre laboratoire, alors que 49 (23 %) les transmettent occasionnellement : sur demande du médecin prescripteur (31 %), pour les souches d'*E. coli* O157 (22 %), dans un contexte clinique de SHU (16 %), lors de suspicion clinique d'infections à EHEC (10 %), lors de notion de cas groupés (6 %), pour confirmation de l'identification de la souche (4 %) ou pour caractérisation des souches non O157 (2 %).

Parmi les 99 laboratoires qui transmettent leurs souches vers un autre laboratoire, 60 (61 %) les envoient au Centre national de référence (CNR) des *E. coli* et *Shigella* (Institut pasteur de Paris), 10 (10 %) les envoient au laboratoire associé au CNR (Hôpital Robert Debré) et 29 (29 %) réfèrent vers un autre laboratoire (Laboratoire Mérieux (11), Laboratoire hospitalier le plus proche (9), Laboratoire CERBA (2), Institut Pasteur de Lille (2), École nationale vétérinaire de Lyon (1), Laboratoire privé (1)).

3.6.5. Transmission de sérums pour sérodiagnostic d'infections à EHEC

Parmi les 210 laboratoires qui ont répondu, 39 (19 %) laboratoires (33 laboratoires hospitaliers et 6 laboratoires privés) transmettent des sérums pour confirmation d'une infection à EHEC.
Ces prélèvements sont envoyés au CNR des *E. coli* et *Shigella* (31 laboratoires), au laboratoire associé au CNR (3 laboratoires) ou à d'autres laboratoires (2 laboratoires).

4. DISCUSSION

Compte tenu du rôle des infections à *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC), plus particulièrement du sérogroupe O157, dans la survenue de syndrome hémolytique et urémique chez l'enfant [8], de la survenue récente de cas groupés d'infections à STEC en France [9, 10] et de développements récents des techniques de diagnostic des STEC, il était nécessaire d'étudier à nouveau la faisabilité d'étendre la surveillance des SHU à celle d'autres pathologies provoquées par les STEC (diarrhée sanglante ou non).
L'objectif de cette nouvelle enquête, succédant à celle réalisée en 1997 avec les laboratoires hospitaliers uniquement [5], était de faire un nouvel inventaire des différentes méthodes de recherche des EPEC et EHEC utilisées dans les laboratoires de bactériologie privés et publics.

La participation des microbiologistes a permis d'obtenir des informations pour seulement 38 % d'entre-eux, participation qui est plus faible que celle obtenue lors de la première enquête (78 %) [5]. Les résultats de notre enquête indiquent que 61% de ces laboratoires réalisent la recherche des EPEC ou EHEC. La plupart d'entre eux réalisent ces examens à la demande du clinicien (70 %) et une majorité (66 %) les réalise systématiquement pour toute coproculture, et surtout en présence de toute diarrhée chez l'enfant âgé de moins de 2 ans. La recherche d'*E. coli* O157 est plus fréquemment réalisée lors de diarrhée sanglante chez l'enfant ou lors de SHU (55-60 %). Cependant, seulement 36 % des laboratoires ont répondu avoir recherché *E. coli* O157 en 2003.

La non disponibilité de techniques adaptées au laboratoire et le manque de connaissances sur les infections à STEC étaient les raisons principales pour ne pas rechercher les EPEC ou les EHEC. Celles-ci pourraient également être à l'origine de l'absence de demande des cliniciens, signalée par 29 % des laboratoires.
Un autre motif justifiant la non recherche des EPEC ou EHEC était le fait que les milieux de culture spécifiques se périment rapidement, ce qui entraîne une augmentation des coûts d'autant plus importante que la demande est rare, voire nulle.
Les motifs de non recherche des EHEC et d'*E. coli* O157 restent donc les mêmes que lors de l'enquête de 1997 [5].

L'identification des souches d'EPEC, et plus encore celles d'EHEC, semble faire appel à différentes méthodes associant l'utilisation d'une galerie d'identification pour Entérobactéries et des sérums agglutinants anti-antigène O. Cependant, seulement 22 % des laboratoires identifient le sérogroupe O parmi une série de 12 sérogroupes, alors que les STEC présentent plus de 50 sérogroupes [http://www.microbionet.com.au/vtec1.htm.webloc]. Ainsi, les sérogroupes O103, O104, O113, O118, O121, O145, O153 et O163, décrits comme producteurs de shigatoxines, ne sont pas recherchés en routine.
Quant aux méthodes d'identification d'*E. coli* O157, elles sont basées, pour la majorité (85 %) des 117 laboratoires, sur des méthodes d'agglutination à l'aide de particules de latex sur des colonies isolées sur des milieux différents.

Du fait de l'augmentation, dans certains pays européens, de la proportion de souches d'*E. coli* O157 fermentant le sorbitol et des souches de STEC non O157, il est conseillé maintenant d'utiliser une autre méthode de détection des STEC (recherche des gènes de virulence) qui permettra de documenter l'incidence réelle des STEC O157 et non O157, ainsi que la pathogénicité des souches de STEC non O157 [11-16].

Cependant, à l'heure actuelle, cette méthode n'est réalisée que dans des laboratoires spécialisés, car elle implique des techniques moléculaires, lourdes à mettre en place et coûteuses. Ce sont soit des techniques d'hybridation, permettant de détecter spécifiquement, sur souches, la présence des gènes correspondants par hybridation sur colonies ou sur membranes après extraction des acides nucléiques, soit des techniques d'amplification génique, permettant de détecter des gènes codant pour les shigatoxines, le gène *eae* et/ou le gène codant pour l'hémolysine [17-19].
Actuellement, en France, seulement 16 laboratoires (8 %) réalisent cette méthode PCR, mais 104 laboratoires (49 %) transmettent leurs souches, pour caractérisation, au CNR des *E. coli* et *Shigella* et/ou à son laboratoire associé.
Par ailleurs, des études récentes ont montré que les tests ELISA étaient plus sensibles que la culture et étaient susceptibles de détecter des shigatoxines ou des antigènes de sérotypes spécifiques [20, 21].

Au vu des résultats de cette deuxième enquête, et dans l'état actuel des pratiques de recherche des EPEC et des EHEC, une surveillance nationale des infections à STEC, reposant sur un réseau représentatif de laboratoires, n'est pas réalisable.
Cependant, l'apport du laboratoire clinique est important dans la surveillance épidémiologique des infections à STEC : en effet, l'isolement et le sérotypage de souches permettent de connaître les souches hautement virulentes « circulant » en France. Il conviendrait donc d'encourager les laboratoires à analyser un maximum d'échantillons de selles pour rechercher des STEC, à sérogrouper toutes les souches, si possible, et à les envoyer au CNR des *E. coli* et *Shigella*, comme cela est déjà réalisé dans d'autres pays [22]. Cependant, du fait de l'augmentation des coûts pour la recherche de STEC, une recherche systématique des gènes codant pour les shigatoxines lors de diarrhée sanglante « macroscopique » ou pour des patients plus à risque de développer des complications telles que le SHU ou le PTT (enfants et personnes âgées) paraît la plus adaptée [23].

En conclusion, au vu de ces différentes informations et des résultats de l'enquête, des recommandations peuvent être proposées pour, à la fois, améliorer la surveillance du SHU et estimer l'incidence des diarrhées à STEC en France :
- une transmission de renseignements cliniques pertinents des médecins aux microbiologistes, qui est indispensable pour permettre un meilleur acheminement des prélèvements vers le laboratoire susceptible de réaliser la recherche de STEC [24] ;
- une information sur l'existence d'un Centre national de référence des *E. coli* et *Shigella* et d'un laboratoire associé au CNR, qui peuvent apporter un appui technique et une expertise auprès des laboratoires d'analyses biologiques et médicales qui en font la demande ;
- le développement d'un protocole de recherche des STEC demandé par quelques 35 laboratoires (10 %) et élaboré par le CNR des *E. coli* et *Shigella* et le laboratoire associé, qui permettra aux microbiologistes qui le souhaitent de mettre en place la recherche de STEC dans leur laboratoire ;
- une information sur l'existence d'un diagnostic sérologique des infections à STEC, réalisé actuellement uniquement au CNR et qui constitue une alternative intéressante, tout particulier pour les infections à *E. coli* O157, dans les cas où les analyses microbiologiques (recherche de STEC dans les selles) n'ont pas été réalisées ou étaient négatives.

5. RECOMMANDATIONS PRECONISEES PAR LE CENTRE NATIONAL DE REFERENCE DES *E. COLI* ET *SHIGELLA* ET DU LABORATOIRE ASSOCIE AU CNR

Les EHEC ou les STEC ont les mêmes caractères biochimiques que la plupart des *Escherichia coli,* à l'exception d'*E. coli* O157:H7 qui présente la particularité, le plus souvent, de ne pas fermenter le sorbitol. Les milieux de culture usuels pour Entérobactéries et les milieux chromogènes, permettant de différencier les colonies utilisant le sorbitol, peuvent donc être utilisés dans l'isolement d'une souche de STEC à partir d'un prélèvement de selles.

Cependant, la recherche de STEC implique, en priorité, la détection des gènes de pathogénicité codant des shigatoxine grâce à une méthode PCR avec un système d'amorces spécifiques des gènes *stx.*
Le sérotypage, à l'aide de sérums agglutinants, n'a qu'un caractère indicatif et la mauvaise qualité des sérums reste un frein à l'utilisation de cette méthode.

5.1. Conditions de recherche des EHEC ou STEC

Les situations les plus prioritaires où la recherche de EHEC et de STEC doit être envisagée sont les suivantes [25, 26]:

- diarrhée sanglante ou glairo-sanglante chez l'enfant ou chez l'adulte, avec recherches négatives de *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* et *Campylobacter* ;
- suspicion de syndrome hémolytique et urémique (SHU) ou de purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT), surtout chez l'enfant ;
- cas groupés de diarrhée sanglante.

5.2. Milieux de transport pour l'envoi des prélèvements (selles ou souches)

Les souches peuvent être conservées et envoyées dans des milieux de conservation usuels.
Pour les prélèvements de selles, les milieux de conservation conseillés sont : le milieu TGV AER ou le milieu Portagerm Amies® agar.
Tous les envois se font à température ambiante, dans un triple emballage (comme recommandé par la réglementation ; http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadrecnr/ecolishig/ecolishig-pratique.html)
Les prélèvements de selles ou de souches sont à envoyer au Centre national de référence des *E. coli* et *Shigella* (pour les adultes) ou au laboratoire associé au CNR (pour les enfants) (annexe 2).

5.3. Isolement et identification des EHEC ou STEC

5.3.1. Milieux d'isolement

- Milieux pour isolement des EHEC : milieux usuels pour entérobactéries (Drigalski, BCP, EMB, etc.) ou milieux chromogènes (CPS ID2, CPS ID3 : *attention, ces milieux n'ont pas d'autorisation de mise sur le marché pour une utilisation sur selles*).
- Milieux pour *E. coli O157:H7* : Gélose SMAC CT (Mac Conkey sorbitol + céfixime + tellurite de potassium) ou Gélose Mac Conkey sorbitol + BCIG ou Gélose Mac Conkey sorbitol

5.3.2. Séro-agglutinations pour les souches d'EHEC

Plusieurs choix de sérums sont proposés :

- Sérum agglutinant nonavalent avec 3 mélanges de 3 sérums* ;
- Sérums trivalents avec 4 mélanges de 3 sérums * ;
  * Les mélanges I et III contiennent les sérums agglutinant les souches les plus fréquemment rencontrées parmi les EHEC en dehors du sérogroupe O157 ;
- Sérum pentavalent (O26, O91, O103, O111, O128, O145) : Seroscreen Dryspot ;
- Sérums monovalents 12 sérums : les sérums indispensables sont les sérums O26, O55, O111 (mélange I). Les sérums O114, O125, O126 et O128 sont moins prioritaires.

5.3.3. Séro-agglutinations pour les souches d'*E. coli* O157

- Sérum immun anti-*E. coli* O157 ;
- *E. coli* O157 test au latex ;
- *E. coli* O157 Dryspot.

5.4. Caractérisation de la virulence des souches de STEC : détection des gènes *stx* codant les shigatoxines

La détection des gènes *stx* a une très grande importance pour caractériser les souches de STEC. Cette méthode doit être préférée, si cela est possible, à la séro-agglutination, même si celle-ci constitue un élément important dans l'identification des souches de STEC.
Le système PCR de Lin et al. 1993 [27] est conseillé pour la détection de tous les gènes de shigatoxines (*stx1*, *stx2* et variants).

5.5. Caractérisation moléculaire des souches de STEC

En ce qui concerne la caractérisation moléculaire des souches de STEC (PCR des gènes de pathogénicité (*stx1*, *stx2*, *eae*, *hlyA*), ribotypie, électrophorèse en champ pulsé), le CNR et le laboratoire associé au CNR réalisent ces analyses gratuitement à titre d'expertise.

REFERENCES

1. Griffin PM, Tauxe AV. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorragic *E. coli* and the associated haemolytic uremic syndrome. Epidemiol Rev. 1991;13:60-98.
2. Tarr PI. *Escherichia coli* O157:H7: clinical, diagnostic, and epidemiological aspects of human infection. Clin Infect Dis. 1995;20:1-10.
3. Decludt B. Syndromes hémolytiques et urémiques en France, épidémiologie et agents responsables (avril 1995-mars 1996). Réseau national de santé publique, Saint Maurice, France. Juin 1997. 83p.
4. Decludt B, Bouvet P, Mariani-Kurkdjian P, Grimont F, Grimont PAD, Hubert B, Loirat C and the société de néphrologie pédiatrique. 2000. Haemolytic uraemic and shiga-toxin-producing infection in children in France. Epidemiol infect. 124 (2) : 215-20.
5. De Valk H, Decludt B. Diagnostic des infections à *E. coli* enterohemorragiques (EHEC) : enquête auprès des laboratoires hospitaliers de bactériologie. Réseau national de santé publique, Saint Maurice, France, Novembre 1997. 22p.
6. Référentiel en microbiologie médicale (bactériologie et mycologie), REMIC. Examen des matières fécales : la coproculture. Société Française de Microbiologie. 2004 ; 2e édition, Chapitre 6. p 27-32.
7. Forestier C, Livrelli V, Joly B. Actualités sur l'épidémiologie et les facteurs de pathogénicité des Escherichia coli entérovirulents. La lettre de l'infectiologie Tome XIII, n°1 janvier 1998.
8. Espié E, Haeghebaert S, Bouvet P, Grimont F, Mariani P, Vaillant V, et le réseau des néphrologues pédiatres. Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de moins de 15 ans en France en 2002 et 2003. BEH. 2004 ;42 :203-4.
9. Espié E and Vaillant V. Toxi-infection alimentaire collective à *E. coli* O148 :H8 producteur de shigatoxines. Gironde, juin 2002 : rapport d'investigation. Institut de veille sanitaire, Saint Maurice, France, Octobre 2003. 44p.
10. Espié E, Vaillant V, Mariani-Kurkdjian P, Grimont F, Martin-Schaller R, De Valk H, Vernozy-Rozand C. *Escherichia coli* O157 outbreak associated with fresh unpasteurised goats' cheese. Epidemiol Infect. 2006;134: 143-146.
11. CDSC. Infection with *Echerichia coli* O157. Communicable Disease Report. 1993;3(34):155.
12. CDSC. Remember to test diarrhoeal stools for *Escherichia coli* O157. Communicable Disease Report. 1996;6(50):433.
13. Verocytotoxin producing *E. coli* : which specimens should be tested ? CDR Weekly. 1995;5(31) :147.
14. Goglio A, Farina C, Tozzi A, Caprioli A, for the AMCLI VTEC infection study group. A nationwide assessment of diagnostic facilities for *Escherichia coli* O157 infections in Italy; VTEC '97 3rd International Symposium and workshop on Shigatoxin-producing *Escherichia coli* infections, June 22-26, 1997, Baltimore, Maryland USA.
15. Slutsker L, Ries AA, Greene KD, Wells JG, Hutwagner L, Griffin PM. *Escherichia coli* O157:H7 diarrhea in the United States: clinical and epidemiologic features. Ann Intern Med. 1997;126(7):505-13.
16. Boyce TG, Pemberton AG, Wells JG, Griffin PM. Screening for *Escherichia coli* O157:H7- a Nationwide Survey of Clinical Laboratories. J Clin Microbiol. 1995;33: 3275-77.
17. Gannon VP, Rashed M, King RK, Thomas EJG. Detection and characterization of the *eae* gene of shigatoxin producing *Escherichia coli* using polymerase chain reaction. J Clin Microbiol. 1993;31:1268-74.
18. Hall RH and XU J. A new and distinctive DNA sequence of *E. coli* O157:H7 and its use for the rapid, sensitive and specific detection of O157:H7 and other enterohemorragic *E. coli*. Brevet International 1995 WHO 95/34682.
19. Karch H and Meyer T. Evaluation of oligonucleotide probes for identification of Shigatoxin producing *E. coli*. JCM 1989;27:1180-6.
20. Dylla BL, Vetter EA, Hughes JG, Cockerill FR. Evaluation of an immunoassay for direct detection of *Escherichia coli* O157 in stool specimens. J Clin Microbiol. 1995;33(1):222-4.
21. Novicki TJ, Daly JA, Mottice SL, Carroll KC. Comparison of sorbitol MacConkey agar and a two-step method which utilizes enzyme-linked immunosorbent assay toxin testing and a chromogenic agar to detect and isolate enterohemorrhagic *Escherichia coli*. J Clin Microbiol. 2000;38(2):547-51.
22. Hurd S, Scheftel J, Snider CJ, Shin S, Hatch J, Thomas SM, Gerber DE, Smith G, Burnite S, Holtry RS, Strockbine N, Moore MR, and the EIP FoodNet Working Group. Clinical laboratory practices for the identification of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in FoodNet Sites. Available at http://www.cdc.gov/foodnet/pub/iceid/2004/SHurd3.htm
23. Kehl SC. Role of the laboratory in the diagnostic of enterohemorrhagic *E. coli* infections. JCM.2002;40(8):2711-5
24. Le Magrex Debar E, Vernet Garniar V, Brasme L, Roussel B, Cadiot G, and De Champs C. *Escherichia coli* O157 : faut-il poursuivre sa recherche en bactériologie clinique ? Journées Infectiologie Strasbourg, 2004.

25. Recommandations pour la pratique clinique sur les indications des examens de selles chez l'adulte. Bull Soc Fr Microbiol. 2003;18 (4) : 287-294.
26. Examen bactériologique des selles (coproculture). Chapitre 6. REMIC 2004 - 6e examen bactériologique des selles (coproculture). p31-35.
27. Lin Z, Kurazono H, Yamazaki S, Takeda Y. Detection of various variant verotoxin genes in *Escherichia coli* by polymerase chain reaction. Microbiol Immunol. 1993;37 : 543-8.

ANNEXE 1

INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE

INSTITUT PASTEUR

Hôpital Robert Debré

Diagnostic des infections à *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC)

Nom du laboratoire	
Rue	
Code postal Ville	
Nom de la personne contact pour cette enquête	
Téléphone	
Fax	
Email	

SECTION A : ACTIVITE DU LABORATOIRE

1. Votre laboratoire est-il?

☐ Un laboratoire hospitalier
☐ Un laboratoire privé
☐ Autre : _____

1.1 Activité majeure du laboratoire
☐ Pédiatrique ☐ Adulte ☐ Pédiatrique/adulte

2. Quelle est l'origine des patients pour lesquels vous réalisez des examens ?

☐ CHRU, CHR ou CHG
☐ Clinique privée ou établissement privé
☐ Praticien libéral (généraliste ou spécialiste)
☐ Autre : _____
☐ Ne sait pas

3. Réalisez-vous des coprocultures ?

☐ Oui ☐ Non
si oui, *allez à la question n°3.1*

Si non, *a*ppartenez-vous à un groupement et transférez-vous les prélèvements à un laboratoire du groupement réalisant les coprocultures ?

☐ Oui ***si oui,*** *merci de transmettre le questionnaire au laboratoire concerné*
☐ Non ***si non,*** *vous n'avez pas à compléter la suite du questionnaire.*

Merci de retourner le questionnaire complété dans l'enveloppe pré-affranchie ci-jointe. Merci pour votre collaboration.

3.1 Réalisez-vous la recherche de *E. coli* entérohémorragiques (EHEC), dont *E.coli* O157, ou de *E. coli* entéropathogènes (EPEC)?

☐ Oui ***si oui,*** *allez à la question n°4*
☐ Non

Si non, appartenez-vous à un groupement et transférez-vous les prélèvements à un laboratoire du groupement réalisant la recherche de EHEC ou EPEC ?
☐ Oui ***si oui,*** *merci de transmettre le questionnaire au laboratoire concerné*
☐ Non

Si non, pour quelles raisons ne réalisez vous pas cette recherche ?
☐ Méconnaissance des techniques
☐ Technique non disponible au laboratoire
☐ Coût trop élevé
☐ Augmentation de la charge de travail
☐ Méconnaissance de l'importance des infections à EHEC
☐ Autres : précisez:_____
_____
_____

Vous n'avez pas à compléter la suite du questionnaire.
Merci de retourner le questionnaire complété dans l'enveloppe pré-affranchie ci-jointe. Merci pour votre collaboration.

Les questions suivantes ne concernent que les laboratoires qui font la recherche des *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) ou des *E. coli* entéropathogènes (EPEC) dans les selles.

4. Recherche des EHEC (dont *E.coli* O157) ou des EPEC en 2003 ?

	Nombre*	Exact	Estimé	NSP
Combien de coprocultures avez-vous réalisé en 2003	_____	☐	☐	☐
Sur combien d'échantillons avez-vous recherché des EHEC/EPEC	_____	☐	☐	☐
Combien d'échantillons étaient positifs pour des EHEC/EPEC	_____	☐	☐	☐
Sur combien d'échantillons avez-vous recherché *E. coli* O157	_____	☐	☐	☐
Combien d'échantillons étaient positifs pour *E. coli* O157	_____	☐	☐	☐

* Indiquer s'il s'agit d'un nombre exact, estimé ou si vous ne savez pas (NSP)

5. Dans quelles circonstances recherchez-vous :

5.1 des **EHEC/EPEC**

- pour toutes les coprocultures ☐ Oui ☐ Non

Si non, dans quelles circonstances *(plusieurs réponses possibles)*

a) Pour toutes les coprocultures d'enfant ☐
b) Si selles diarrhéiques chez un enfant ☐
b) Si selles diarrhéiques chez un adulte ☐
c) Si présence de sang ou mucus dans les selles d'enfant ☐
d) Si présence de sang ou mucus dans les selles d'adulte ☐
e) Si syndrome hémolytique et urémique ☐
f) A la demande du médecin ou du clinicien ☐
g) Si mention de cas groupés ☐
g) Selon d'autres critères ☐
préciser : _____

5.2 ***E. coli* O157**

- pour toutes les coprocultures ☐ Oui ☐ Non

Si non, dans quelles circonstances *(plusieurs réponses possibles)*

a) Pour toutes les coprocultures d'enfant ☐
b) Si selles diarrhéiques chez un enfant ☐
b) Si selles diarrhéiques chez un adulte ☐
c) Si présence de sang ou mucus dans les selles d'enfant ☐
d) Si présence de sang ou mucus dans les selles d'adulte ☐
e) Si syndrome hémolytique et urémique ☐
f) A la demande du médecin ou du clinicien ☐
g) Si mention de cas groupés ☐
g) Selon d'autres critères ☐
préciser : _____

6. Quelles sont les informations concernant le patient que le praticien vous transmet et que vous enregistrez lors d'une recherche des EHEC ou EPEC ? *(plusieurs réponses possibles)*

Informations démographiques	Oui, toujours	Oui, parfois	Non
Age	☐	☐	☐
Sexe	☐	☐	☐
Lieu de résidence	☐	☐	☐
Histoire clinique	Oui toujours	Oui, parfois	Non
Date du prélèvement	☐	☐	☐
Diarrhée	☐	☐	☐
Colite hémorragique	☐	☐	☐
Syndrome hémolytique et Urémique	☐	☐	☐
Purpura thrombotique thrombocytopénique	☐	☐	☐
Date du début des symptômes	☐	☐	☐
Hospitalisation	☐	☐	☐
Autres informations	Oui toujours	Oui, parfois	Non
Notion de cas groupés	☐	☐	☐
Voyage à l'étranger	☐	☐	☐

SECTION B :Techniques de recherche des EHEC ou EPEC

7. Quel milieu utilisez-vous pour la recherche des EHEC ou EPEC ?	
EHEC/EPEC	
E.coli O157	

8. Réalisez-vous des examens complémentaires sur les isolements suspects pour confirmer :
8.1 les **EHEC ou EPEC** ?

☐ Oui
☐ Non

Si oui, **quelle(s) technique(s) utilisez-vous ?**

Galerie d'identification biochimique ☐ Oui, laquelle : _____ ☐ Non
Sero-agglutination de l'antigène O ☐ Oui, quel(s) sérum(s) : _____ ☐ Non
nombre de sérums : _____
Sero-agglutination de l'antigène H ☐ Oui, quel(s) sérum(s) : _____ ☐ Non
nombre de sérums : _____

Autres techniques, spécifier :_____
_____

8.2. ***E. coli* O157** ?

☐ Oui
☐ Non

Si oui, **quelle(s) technique(s) utilisez-vous ?**

Galerie d'identification biochimique ☐ Oui, laquelle : _____ ☐ Non
Sero-agglutination de l'antigène O ☐ Oui, quel sérum : _____ ☐ Non
_____
Sero-agglutination de l'antigène H ☐ Oui, quel sérum : _____ ☐ Non
_____

Autres techniques, spécifier :_____
_____

9. Réalisez-vous des tests pour caractériser la virulence des EHEC/EPEC ?

☐ Oui
☐ Non

Si oui, préciser
quels sont les facteurs recherchés (toxines, gènes codant pour les facteurs de virulence) :
_____
quelle est la méthode utilisée : _____
_____
et si la recherche est effectuée directement sur selles ☐
sur colonies ☐

10. Conservez-vous les souches de EHEC ou EPEC isolées ?

☐ Oui, systématiquement
☐ Oui, parfois, préciser dans quelles circonstances : _____
_____
☐ Non

11. Transmettez-vous les souches de EHEC ou EPEC à un autre laboratoire pour un diagnostic de confirmation ou une caractérisation de la virulence des souches ?

☐ Oui, toujours
☐ Oui, occasionnellement préciser dans quelles circonstances : _____
_____
☐ Non ***si non,*** *allez à la question n°12*

Si oui, à quel laboratoire transmettez-vous les souches ?
☐ Centre national de référence (CNR) des *E. coli* et *Shigella* (Institut Pasteur, Paris)
☐ Laboratoire associé au CNR des *E. coli* et *Shigella* (Hôpital Robert Debré, Paris)
☐ Autre, lequel : _____

12. Transmettez-vous des sérums pour le sérodiagnostic des infections à EHEC ou STEC ?

☐ Oui ☐ Non
Si oui, à quels laboratoires ?
☐ Centre National de Référence (CNR) des *E. coli* et *Shigella* (Institut Pasteur, Paris)
☐ Laboratoire associé au CNR des *E. coli* et *Shigella* (Hôpital Robert Debré, Paris)
☐ Autre, lequel : _____

Avez-vous des commentaires :
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____

Nous vous remercions pour votre collaboration et de bien vouloir retourner le questionnaire complété dans l'enveloppe pré-affranchie ci-jointe

ANNEXE 2

DIAGNOSTIC DES INFECTIONS A
***ESCHERICHIA COLI* PRODUCTEURS DE SHIGATOXINES**

PROTOCOLE MICROBIOLOGIQUE
Recherche des *Escherichia coli* producteur de shigatoxines (STEC)

1 - Prélèvement et transport d'échantillons de selles

Milieu de transport : de préférence : milieu TGV AER (BIORAD)
Le milieu de transport se présente sous forme d'un dispositif composé de deux compartiments :
- l'un, contenant l'écouvillon monté en coton hydrophile, avec tige de bois,
- l'autre, contenant le milieu de transport gélosé, tous deux rattachés à une baguette centrale.

En cas d'absence de selles, effectuer un recueil par écouvillonnage rectal (et non anal) et le placer dans le milieu de transport.

Mode d'emploi :
- libérer l'écouvillon en enlevant le tube protecteur ;
- prélever 1 à 2 grammes de selles avec l'écouvillon ;
- déboîter la bague-support du tube contenant le milieu de transport ;
- introduire l'écouvillon dans le milieu du transport gélosé ;
- boucher hermétiquement en immergeant le coton hydrophile dans le milieu ;
- par prudence , scotcher le bouchon ;
- conserver entre + 2°C et 20°C.

Noter précisément sur **l'étiquette** : nom et prénom du patient
date du prélèvement
nom du service et de l'établissement hospitalier

Remplir une fiche accompagnatrice

Expédition :
L'expédition doit être faite par courrier rapide, si possible, le tube enveloppé dans du papier à bulles.
- courrier adressé à : **Patricia MARIANI-KURKDJIAN**
Laboratoire associé au CNR des *Escherichia coli* et *Shigella*
Service de microbiologie
Hôpital Robert Debré
48 Boulevard Sérurier
75019 Paris Cedex 19
Tel : 01 40 03 23 40
Fax : 01 40 03 20 20
Email : patricia.mariani@rdb.ap-hop-paris.fr

En cas de problèmes ou questions, contacter le laboratoire avant envoi du prélèvement

DIAGNOSTIC DES INFECTIONS A
***ESCHERICHIA COLI* PRODUCTEURS DE SHIGATOXINES**

SERODIAGNOSTIC DES INFECTIONS A STEC
Recherche d'anticorps dirigés contre le lipopolysaccharide
des *Escherichia coli* producteur de shigatoxines (STEC)

2 - Prélèvement et transport des sérums

Prélèvements :
Nature : sérum (sang coagulé et centrifugé, non hémolysé)
Quantité : 1 ml minimum

Conditions de **transport** : T° ambiante/4°C (congélation possible si traitement différé)

Noter précisément sur **l'étiquette** : nom et prénom du patient
date du prélèvement
nom du service et de l'établissement hospitalier

Remplir la fiche accompagnatrice

Expédition :
L'expédition doit être faite par courrier rapide, si possible, le tube enveloppé dans du papier à bulles.

- courrier adressé à : **Francine GRIMONT**
Centre national de référence des *Escherichia coli* et *Shigella*
Unité Biodiversité des bactéries pathogènes émergentes
Institut Pasteur
28 rue du Docteur Roux
75724 Paris Cedex 15
Tel : 01 45 68 87 39
Fax : 01 45 68 88 37
Email : fgrimont@pasteur.fr

En cas de problèmes ou questions, contacter le laboratoire avant envoi du prélèvement ou consulter le site : www.pasteur.fr/sante/clre/cadrecnr/ecolishig/ecolishig-index.html

Adresse électronique du CNR : colishig@pasteur.fr

DIAGNOSTIC DES INFECTIONS A
***ESCHERICHIA COLI* PRODUCTEURS DE SHIGATOXINES**

FICHE A JOINDRE AU PRELEVEMENT DE SELLES OU DE SERUMS

PRELEVEMENT DE :
SELLES ☐ SERUMS ☐ (sang coagulé et centrifugé, non hémolysé)

Date du prélèvement : /____/____/_____/
Nom : _____ **Prénom** : _____
Date de naissance : /____/____/_____/
Sexe : M ☐ F ☐

Renseignements cliniques :
Diarrhée ☐
Diarrhée sanglante ou glairo-sanglante ☐
Syndrome hémolytique et urémique (SHU) ☐
Autre ☐ préciser : _____

Cachet du service :

PRELEVEMENTS A ENVOYER A

1- Pour les selles

Patricia MARIANI-KURKDJIAN
Laboratoire associé au CNR
des *Escherichia coli* et *Shigella*
Service de microbiologie
Hôpital Robert Debré
48 Boulevard Sérurier
75019 Paris Cedex 19
Tél : 01 40 03 23 40
Fax : 01 40 03 20 20
Email : patricia.mariani@rdb.ap-hop-paris.fr

2- Pour les sérums

Francine GRIMONT
CNR des *Escherichia coli* et *Shigella*
Unité biodiversité des bactéries
pathogènes émergentes
Institut Pasteur
28 rue du Docteur Roux
75724 Paris Cedex 15
Tél : 01 45 68 87 39
Fax : 01 45 68 88 37
Email : fgrimont@pasteur.fr

Enquêtes - étude

ISBN en ligne : 2-11-096297-6
Dépôt légal : Août 2006

Institut de Veille Sanitaire

Département des maladies infectieuses

12, rue du Val d'Osne - 94415 Saint-Maurice cedex
Tél. : 33 (0) 1 41 79 67 00 - Fax : 33 (0) 1 41 79 67 67
http://www.invs.sante.fr